Über Manganspeicherung in den Membranen von Wasserpflanzen

Von

Milena Perušek

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien
Nr. 129 der zweiten Folge

(Mit 1 Doppeltafel)

(Vorgelegt in der Sitzung am 13. März 1919)

I. Einleitung.

Durch die Untersuchungen von Molisch ist gezeigt worden, daß manche Wasserpflanzen imstande sind, Mangan — gleichwie Eisen — bei Lichtzutritt in ganz charakteristischer Weise in der Membran zu speichern, wobei die experimentell gestützte Auffassung von Molisch dahingeht, daß die Speicherung des Mangans in Form von Manganoxyd (vgl. Molisch, III, p. 1428) wahrscheinlich eine Folge der Kohlensäureassimilation darstellt (Molisch, III, p. 1434).

Herr Hofrat Molisch hatte die Liebenswürdigkeit, mich aufzufordern, seine Arbeit über die Manganspeicherung bei Wasserpflanzen (Molisch, III) zu erweitern und die von ihm gewonnenen Resultate durch Ergänzung mit neuen Erfahrungen auf eine breitere Versuchsbasis zu stellen.

Es sei mir gestattet, gleich an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Hofrat Prof. Dr. Hans Molisch, für die dauernde Führung und Förderung meiner Arbeit, sowie Herrn Prof. Dr. Oswald Richter für die zahlreichen Anregungen meinen wärmsten Dank auszusprechen.

II. Allgemeine Bedingungen für die Manganspeicherung.

Als Ausgangspunkt meiner Untersuchung diente ein von Molisch zum ersten Male gemachter Versuch: Man löst ein beliebiges Mangansalz (vgl. Molisch, III, p. 1432) in gewöhnlichem Leitungswasser und füllt damit ein mittelgroßes Glasgefäß. In die Lösung wird nun eine Wasserpflanze, z. B. *Elodea canadensis* gebracht und das Gefäß an ein direkt belichtetes Fenster gestellt. Nach kürzerer oder längerer Zeit bemerkt man schon mit freiem Auge, daß sich die Blättchen allmählich braun zu färben beginnen, bis sie schließlich dunkelbraun werden. Unter dem Mikroskop zeigt die Flächenansicht des Blattes eigentümliche braune, ovale Flecke an den einzelnen Zellen; der Querschnitt lehrt uns, daß die Braunfärbung nur in den äußeren Zellwänden der Epidermis auftritt. Nach Behandlung mit verdünnter Salzsäure verschwinden die braunen Flecke vollständig und durch eine chemische Untersuchung kann man sich überzeugen, daß diese lokale Membranfärbung von einer Manganverbindung herrührt.

Nur gewisse Wasserpflanzen sind befähigt, Mangan in den Zellwänden einzulagern; neben dieser spezifischen Fähigkeit der Manganspeicherung kommen für das Gelingen des Versuches noch verschiedene andere Momente in Betracht.

a) Belichtungsverhältnisse.

Wie Molisch durch Versuche festgestellt hat, erfolgt die Manganoxydabscheidung nur bei Lichtzutritt. Aber auch in schwachem diffusen Lichte bleibt sie oft ganz aus (Molisch, III, p. 1433). So verweilten z. B. *Lemna trisulca, L. minor, Fontinalis,* die im Februar in eine 0·05-prozentige $MnSO_4$-Lösung gelegt worden waren, mehrere Wochen in der Lösung, ohne sich zu färben und starben schließlich ab. Bei *Elodea* und *Stratiotes* hingegen, welche überhaupt eine reichlichere Manganoxydausscheidung zeigen, erschien die Braunfärbung etwa nach 3 Wochen. Im Juni, bei günstigen Belichtungs- und Temperaturverhältnissen, erfolgte die Abscheidung auch bei den erstgenannten Pflanzen in kurzer Zeit.

In direktem Sonnenlichte zeigt sich die Braunfärbung infolge der Manganoxydabscheidung oft schon nach wenigen Stunden. So färbten sich die Blätter eines *Elodea*-Sprosses im Mai nach $2^1/_2$ Stunden sehr deutlich braun.

Die Wirkung des Lichtreizes auf die Manganoxydabscheidung ist ganz lokal. Ein Blatt von *Stratiotes* wurde mittels eines Streifens schwarzer Wachsleinwand an einen Objektträger befestigt und in einer Mangansalzlösung dem direkten Sonnenlichte ausgesetzt. Die nicht belichtete Stelle des Blattes unter dem Streifen blieb vollständig ungefärbt, während das übrige Blatt schon tiefbraun war, und zwar war die Abgrenzung der beiden Partien ganz scharf.

Je intensiver die Belichtung, desto schneller und reichlicher erfolgt die Manganoxydspeicherung in der Epidermis. So zeigt auch wahrscheinlich aus diesem Grunde die meist stärker belichtete Oberseite der Blätter — sofern diese beiderseits Mangan speichern — in der Regel eine intensivere Braunfärbung als die Unterseite.

b) Konzentration der Versuchslösung.

Die Mangansalze sind jedenfalls in stärkerer Konzentration den Pflanzen schädlich. Die verschiedenen Pflanzen zeigen in dieser Beziehung eine verschiedene Empfindlichkeit. *Potamogeton lucens* z. B. geht in einer 0·05-prozentigen $MnSO_4$-Lösung schon nach wenigen Tagen zugrunde, *Ceratophyllum* nach längerer Zeit, und zwar ohne sich zu färben. Am günstigsten haben sich Konzentrationen von ungefähr 0·01 bis 0·03% $MnCl_2$ oder $MnSO_4$ in Leitungswasser erwiesen. (Wo nichts Besonderes erwähnt wird, wurde als Versuchslösung immer die Lösung eines Mangansalzes in Leitungswasser verwendet.) Manche Pflanzen vertragen ziemlich hohe Konzentrationen, wie *Elodea canadensis*, die in einer einprozentigen $MnSO_4$-Lösung bei einem bestimmten Versuch noch nach 10 Tagen lebte; bei einem anderen Versuche waren *Elodea* wie auch *Stratiotes* in einer 0·05-prozentigen $MnCl_2$-Lösung nach 3 Monaten noch am Leben. Die meisten Pflanzen jedoch gehen auch in schwächeren Lösungen nach einigen Wochen zugrunde.

c) Die Manganoxydabscheidung ist eine Lebenserscheinung.

(Molisch, III, p. 1432).

Die wichtigste Bedingung ist, daß man mit lebenden Pflanzen experimentiert; denn tote Pflanzen sowie auch einzelne tote Zellen zeigen nie die charakteristische Erscheinung.

Versuch: Sprosse von *Elodea*, *Ranunculus aquatilis*, *Potamogeton pectinatus* u. a. wurden auf verschiedene Weise getötet (1. durch Austrocknenlassen, 2. durch heißes Wasser, 3. durch Alkohol) und in eine 0·05-prozentige $MnCl_2$-Lösung gebracht. In keinem Falle trat eine Manganoxydabscheidung ein.

Zu den Versuchen eignen sich nur gesunde, kräftige Pflanzen. Vergleichende Versuche mit kräftigen, im Freien gewachsenen und mit geschwächten *Elodea*-Sprossen aus dem Aquarium zeigten, daß die Braunfärbung bei diesen viel langsamer erfolgt und nicht dieselbe Intensität erreicht als bei jenen. Viele Zellen blieben überhaupt ungefärbt, obwohl sie lebten.

Versuchs-dauer	1% $MnCl_2$		0·1% $MnCl_2$		0·01% $MnCl_2$	
	Kräftige Pflanze	Geschwächte Pflanze	Kräftige Pflanze	Geschwächte Pflanze	Kräftige Pflanze	Geschwächte Pflanze
1 Tag	4	3	3	1	1	—
2 Tage	5	3	4	1	1	1
7 Tage	5	3 4	5	1	2	1

Skala: 1 kaum merklich, — 5 intensiv gefärbt.

III. Verbreitung der Fähigkeit bei Wasserpflanzen, Mangan in den Membranen zu speichern.

Zunächst war eine möglichst große Anzahl von Wasserpflanzen auf ihre Fähigkeit der Manganspeicherung hin zu prüfen. Dabei stellte es sich heraus, daß diese den typischen

submersen Pflanzen fast allgemein zukommt (eine Ausnahme bildet z. B. *Utricularia*).

Bei Wasserpflanzen mit polymorphen Blättern zeigen ebenfalls die submersen Blätter fast durchwegs Manganeinlagerung (eine Ausnahme bildet *Cabomba*), bei Schwimmblättern erfolgt sie in der Regel nur in der unteren Epidermis (bei *Hydrocharis* auch in der oberen). Die ausgewachsenen Luftblätter (die sich am Fundorte außerhalb des Wassers befanden) zeigen gewöhnlich keine Abscheidung oder nur in ganz geringem Maße, wohl aber in jugendlichem Stadium, solange sie noch untergetaucht sind. Gedacht ist hier hauptsächlich an *Alisma* und *Sagittaria*.

Es sei hier betont, daß die Pflanzen bei den Versuchen stets mit allen ihren Teilen in der Mangansalzlösung untergetaucht gehalten wurden, ganz gleichgültig, ob Wssser- oder Landpflanzen, und ob sie in der Natur submers, teilweise oder ganz außerhalb des Wassers aufgefunden wurden.

Bei den amphibischen Pflanzen und den Schwimmpflanzen ist die Fähigkeit, Mangan zu speichern, nicht so verbreitet wie bei den typischen submersen Wasserpflanzen, auch erfolgt die Abscheidung weniger energisch als bei diesen. Unter den Sumpfpflanzen, den Pflanzen, die in sumpfigem Boden wurzeln und mit den oberirdischen Organen gewöhnlich in die Luft ragen, ist diese Fähigkeit schon fast gar nicht zu finden. Die einzige Ausnahme bildet unter den geprüften Pflanzen *Butomus umbellatus*, bei dem die charakteristische Erscheinung auftritt. Bei einigen Sumpfpflanzen erscheint die Braunfärbung nur auf einzelne Zellen oder Zellgruppen beschränkt, die äußerst spärlich und unregelmäßig über die Blattfläche zerstreut sind, so bei *Veronica beccabunga* und *V. anagallis*; die meisten Sumpfflanzen jedoch zeigen keine Manganspeicherung.

Unter der Annahme, die Manganeinlagerung sei eine Folge der Kohlensäureassimilation, ließe sich diese progressiv abnehmende Fähigkeit der Manganabscheidung von den typischen submersen Wasser- zu den Landpflanzen folgendermaßen erklären: Die submersen Wasserpflanzen sind nur an die direkte Kohlensäureaufnahme durch die Epidermis angewiesen,

welche infolge der dünnen Kutikula, die auch ganz fehlen kann, ermöglicht wird. Ebenso wie die typischen submersen Wasserpflanzen verhalten sich die submersen Blätter von Wasserpflanzen mit polymorphen Blättern. Daß die schwer benetzbare Oberseite der Schwimmblätter keine Manganoxydabscheidung zeigt, wäre verständlich, da die Kohlensäure so gut wie nicht durch die Epidermis eintreten kann, sondern deren Aufnahme durch Spaltöffnungen besorgt wird. Dasselbe ist auch bei den Blättern der Landpflanzen der Fall, die eine normal ausgebildete Kutikula besitzen.

Unter den untersuchten Pflanzen ließ sich bei folgenden keine Manganspeicherung nachweisen: *Isoëtes Malinvernianum, Sparganium simplex, Scirpus lacustris, Nuphar luteum, Nymphaea* sp., *Cabomba* sp. (submerse Blätter), *Bacopa Monniera, Ambulia* sp., *Myriophyllum proserpinacoides, Hippuris vulgaris, Utricularia vulgaris, Callitriche* sp., *Ludwigia palustris, Lysimachia nummularia, Polygonum amphibium, Galium palustre, Myosotis scorpioides* u. a.

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht der manganspeichernden Pflanzen in bezug auf die Topographie der Manganeinlagerung. *Myriophyllum, Elodea, Vallisneria* und *Ranunculus aquatilis* wurden schon von Molisch angeführt, die übrigen haben sich nach meinen Untersuchungen als manganspeichernd erwiesen.

Der Ort der Manganeinlagerung ist für die einzelnen Pflanzen charakteristisch.

a) Bei Pflanzen, bei denen Mayr (I) Hydropoten nachgewiesen hat, stimmt die Lage der durch Manganoxyd braungefärbten Stellen mit der Lage der Hydropoten überein. Diese färben sich in einer Fuchsinlösung rot (Mayr, I, p. 282 und 353); dieselben Stellen zeigen in einer Mangansalzlösung Braunfärbung, so bei *Ceratophyllum demersum, Potamogeton natans, Ranunculus aquatilis, R. divaricatus, Sagittaria sagittifolia, Alisma plantago, A. gramineum, Myriophyllum spicatum.* Da die Hydropoten besondere Organe darstellen, die zur Aufnahme der Nahrung, also auch der Kohlensäure, befähigt sind, spricht die erwähnte Tatsache neben anderen für die Annahme,

daß die Manganoxydeinlagerung mit der Kohlensäureassimilation zusammenhängt (vgl. Fig. 7 bis 9).

b) Aber auch bei manchen Pflanzen, bei denen keine Hydropoten nachgewiesen sind (z. B. *Elodea*, siehe Tabelle), bleibt die Manganabscheidung auf bestimmte Zellkomplexe beschränkt. Allerdings kommt es vor, daß sich bei *Elodea* die anfänglich ungefärbt bleibenden Zellreihen über den Nerven bei langer Versuchsdauer schließlich auch schwach zu färben beginnen, doch bleibt immer noch ein deutlicher Unterschied gegenüber dem übrigen Blatt bestehen. Der Stengel bleibt stets ungefärbt, wie das auch bei anderen Pflanzen der Fall ist (*Ranunculus aquatilis*, *R. dinaricatus* u. a.). Bei einigen Pflanzen färben sich die Zellen über den Blattnerven nur etwas langsamer und schwächer als die Umgebung (so bei *Potamogeton crispus*, *P. perfoliatus*, *P. lucens*). Bei den genannten Pflanzen bemerkt man an den Blättern inselweise die Zellen schwächer oder gar nicht gefärbt. Die Abgrenzung ist zwar nicht scharf, doch scheint diese Differenzierung nicht zufällig zu sein, da dieselbe auch bei der Färbung mit Fuchsin eintritt.

Einen besonderen Fall bilden die Raphidenzellen bei *Lemna trisulca* und *L. minor*, die, sich von den übrigen Zellen abhebend, keine Manganeinlagerung zeigen.

c) Wo in der Tabelle nichts Besonderes erwähnt wurde, zeigen alle Epidermiszellen des betreffenden Organs Manganoxydabscheidung oder besitzen wenigstens die Fähigkeit dazu. Es kommt oft vor, daß sich nicht alle Zellen gleichmäßig färben; bei einigen Zellen oder Zellkomplexen erfolgt die Abscheidung wahrscheinlich aus inneren Gründen langsamer oder gar nicht. In vielen Fällen jedoch dürfte die Ursache in den Belichtungsverhältnissen liegen.

Die Abscheidung erfolgt bei verschiedenen Pflanzen unter gleichen Umständen verschieden rasch und intensiv. *Chara* z. B. wird schon in kurzer Zeit ganz schwarz vom abgeschiedenen Manganoxyd, ebenso die Hydropoten an den Bandblättern und Schwimmblattstielen von *Sagittaria sagittifolia*, während bei anderen Pflanzen, wie bei *Hydrocharis*, die Abscheidung nur langsam vor sich geht.

	Familie	Gattung und Art	Gefärbtes Organ	Ort der Manganspeicherung
Chlorophyceae	*Characeae*	*Chara* sp.	ganzer Thallus	sämtliche Zellen.
Musci	*Fontinalaceae*	*Fontinalis antipyretica*	Blättchen und Stämmchen	ganze Oberfläche.
Hepaticae	*Ricciaceae*	*Riccia fluitans*	Frons	ganze Oberfläche außer den jungen Endteilen.
Dicotyledones	*Ranunculaceae*	*Ranunculus divaricatus*	Wasserblatt	ganze Oberfläche außer der Blattbasis und den Zellen in den Achseln der Gabelungen.
		Ranunculus aquatilis	»	ganze Oberfläche, ausgenommen die Achseln der Gabelungen.
	Ceratophyllaceae	*Ceratophyllum demersum*	Blatt	ganze Oberfläche, ausgenommen ein scharf abgegrenztes Stück an der Blattbasis und den Achseln der Gabelungen.
	Halorrhagidaceae	*Myriophyllum spicatum*	»	ganze Oberfläche außer den Zellen an der Blattbasis und in den Achseln der Gabelungen.
			Stengel	ovale bis runde Zellgruppen.
Monocotyledones	*Alismalaceae*	*Ališma plantago*	Wasserblatt	ganze Oberfläche.
			Schwimmblatt, Stiel	stellenweise die Zellen über den Nerven.
			Spreite	die gefärbten Zellen in Gruppen, spärlich über die Ober- und Unterseite verteilt, meist über den Nerven.

Monocotyledones	*Alismataceae*	*Alisma plantago*	Luftblatt	wie beim Schwimmblatt.
		Alisma gramineum	Luftblatt, Stiel	ganze Oberfläche.
			Spreite	obere und untere Epidermis.
			Blütenschaft	unregelmäßig verteilte Stellen.
		Sagittaria sagittifolia	Wasserblatt	mehrere Zellreihen über den Nerven der unteren Epidermis und am Blattrand.
			Schwimmblatt, Stiel	mehrere Zellreihen über den Nerven.
			Spreite	Zellen über den Nerven und regelmäßig verteilte Zellgruppen an der Unterseite.
			Luftblatt, Stiel	mehrere Zellreihen über den Nerven.
			Spreite	einzelne Zellen und Zellgruppen der Ober- und Unterseite.
	Butomaceae	*Butomus umbellatus*	Blatt	obere und untere Epidermis.
			Blütenschaft	gefärbte Stellen spärlich und regellos verteilt.
	Hydrocharitaceae	*Valisneria spiralis*	Blatt	obere und untere Epidermis.
		Stratiotes aloides	»	obere und untere Epidermis.
		Elodea canadensis	»	ganze Oberfläche mit Ausnahme der Zellen über dem Mittelnerv und 2 bis 4 Zellreihen am Blattrand.[1]
		Elodea crispa	»	wie oben.

[1] Von Molisch (III, p. 1429) beschrieben.

	Familie	Gattung und Art	Gefärbtes Organ	Ort der Manganspeicherung
Monocotyledones	*Hydrocharitaceae*	*Hydrilla verticillata*	Blatt	ganze Oberfläche außer einer Zellreihe am Blattrand
			Stengel	ganze Oberfläche.
		Hydrocharis morsus ranae	Blatt	obere und untere Epidermis.
		Trianea bogotensis	»	Unterseite.
	Potamogetonaceae	*Potamogeton lucens*	»	ganze Oberfläche.
		Potamogeton densus	»	» »
		Potamogeton perfoliatus	»	» »
		Potamogeton crispus	»	» »
			Stengel	die Schmalseiten.
		Potamogeton acutifolius	Blatt	ganze Oberfläche, auch das Blatthäutchen.
			Stengel	» »
		Potamogeton pectinatus	Blatt	» »
		Potamogeton natans	submerses Blatt	» »
			Schwimmblatt, Stiel	ganze Oberfläche bis auf ein scharf abgegrenztes Stück am oberen Ende, auch das Blatthäutchen.
			Spreite	untere Epidermis.
	Najadaceae	*Najas major*	Blatt	ganze Oberfläche.
			Stengel	» »
	Lemnaceae	*Lemna trisulca*	»	Ober- und Unterseite.
		Lemna minor	»	Unterseite.

Diese Unterschiede dürften mit der verschiedenen Assimilationsgeschwindigkeit der Pflanzen im Zusammenhange stehen.

d) Die Einlagerung des Manganoxyds tritt fast ausnahmslos nur in der äußeren Epidermiswand auf, selten auch in den zu dieser senkrecht stehenden Zellwänden. Bei *Lemna* speichert die obere Wand der Epidermiszellen mit welliger Kontur kein Manganoxyd, wohl aber die darunterliegenden Membranen und die Seitenwände (Fig. 3). Die viereckigen Epidermiszellen hingegen zeigen die Manganeinlagerung in den oberen Zellwänden. Bei *Chara* wird in sämtlichen Zellwänden Manganoxyd abgeschieden (Fig. 4).

e) Der gefärbte Teil der Zellwand ist nicht immer von gleicher Form. Oft sind seine Konturen parallel denen der Zellwand und er ist von einer schmäleren oder breiteren ungefärbten Zone umgeben (Fig. 6). Er kann auch elliptisch, rund oder biskuitförmig (Fig. 1 *a*) und von verschiedener Größe im Verhältnis zur Zellwand sein. Nicht selten treten daneben an den Membranen Zapfenbildungen auf, die ebenfalls Manganoxyd einlagern (Fig. 1), manchmal erscheinen auch diese allein (Molisch, III, p. 1428). Zuweilen färbt sich die ganze Epidermis gleichmäßig, entweder gleich von Anfang an (stets bei *Riccia*), oder es verwischen sich nach längerer Zeit die anfangs gebildeten Figuren. Oft jedoch bleiben diese noch nach Wochen scharf abgegrenzt erhalten. Im allgemeinen sind diese Figuren nicht charakteristisch für die einzelnen Pflanzen, es können verschiedenartige auf demselben Blatt zugleich auftreten. Manchmal geht die Färbung von den Rändern der Zellwand aus. Selten sind die braunen Flecke ohne Beziehung zu den einzelnen Zellen strichweise über das Blatt angeordnet (so an den Luftblättern von *Alisma plantago*).

Sehr auffallend ist die regelmäßige Querstreifung bei den Rindenzellen von *Chara* (Fig. 5). Es ist interessant, daß die in den Interzellularräumen eingelagerten Kalkcarbonatkrystalle derart aneinandergefügt sind, daß bei der Flächenansicht der Rindenzellen hellere und dunklere miteinander abwechselnde Partien erscheinen, und infolgedessen eine ähnliche Querstreifung zustande kommt wie infolge der Manganeinlagerung in der Membran.

f) Wenn die Pflanze sehr lang in der Mangansalzlösung verweilt, werden zuweilen ganze Krusten einer braunen, körnigen Masse auf der Blattoberfläche abgeschieden. Diese Erscheinung wurde bei *Elodea* beobachtet. Zuerst erfolgte die Abscheidung an den Stellen, wo auch die Zellwand das Manganoxyd einlagerte, später auch gegen den Rand zu. Doch war die Abscheidung in der Mitte viel reichlicher, so daß die abgehobene Kruste gleichsam ein Abbild des braungefärbten Blattes zeigte, indem auf der Fläche dunklere Flecke, entsprechend den einzelnen Zellen, zu erkennen waren.

Auf der Oberfläche der Wasserpflanzen, die sich in Mangansalzlösungen befanden, waren oft große Mengen von Eisenbakterien, die statt Eisen Mangan speicherten, zu beobachten. Ebenso fielen die Fußzellen mancher epiphytischer Algen auf, welche nicht selten vom abgeschiedenen Manganoxyd ganz schwarz erschienen (vgl. Molisch, I, p. 71, und IV, p. 50).

IV. Besonderheiten in der Manganspeicherung.

a) Verhalten des Spaltöffnungsapparats.

Bei manganspeichernden Pflanzen, die Spaltöffnungen besitzen, fallen die Zellen des Spaltöffnungsapparats durch ihr besonderes Verhalten unter den übrigen Zellen auf: Die Schließzellen bleiben stets ungefärbt, in der Regel auch die den Schließzellen parallelen Nebenzellen (Fig. 2); manchmal zeigen die quergestellten benachbarten Zellen ebenfalls keine Manganspeicherung. Zuweilen kommt es auch vor, daß die Nebenzellen nur schwächer gefärbt sind als die Umgebung.

Die erwähnte Erscheinung ist ein neuerlicher Beleg für die besondere Stellung des Spaltöffnungsapparats, auf die schon öfters hingewiesen wurde (vgl. Leitgeb, I, p. 131; Molisch, II, p. 30; Kindermann, I; Kluyver, I, p. 1148; Molisch, VI, p. 480). Die Ursache für das auffallende Verhalten der Spaltöffnungen bei manganspeichernden Pflanzen könnte in der Membran oder — was wahrscheinlicher ist — im besondern Chemismus dieser Zellen liegen (vgl. Hamorak, I).

b) Verhalten der Zellen in der Umgebung von toten Stellen.

Es ist eine merkwürdige Erscheinung, daß sich Zellen, die an tote Stellen angrenzen, in der Regel gar nicht oder wenigstens schwächer färben als die übrigen. An den Stengeln von *Potamogeton acutifolius* wurden oft einzelne Zellen mit zerstörtem Inhalt beobachtet; die Zellen, die unmittelbar an solche Zellen grenzten, blieben vollkommen ungefärbt, obwohl sie lebten, wie durch Plasmolyse nachgewiesen wurde, während die nächsten Zellen schon tiefbraun gefärbt waren.

Durch Verwundung wurden künstlich solche tote Stellen erzeugt. *Elodea*-Blätter wurden durch Nadelstiche, durch das Berühren mit einer glühenden Nadelspitze und durch Abschneiden der Blattenden verwundet, die Sprosse 4 Tage in Leitungswasser und nachher in eine $MnSO_4$-Lösung gebracht. Bei kleinen Wundstellen trat der Unterschied zwischen den angrenzenden ungefärbten Zellen, die alle starke Protoplasmaströmung zeigten, und den übrigen intensiv gefärbten Zellen deutlich hervor (Fig. 6). Auch an größeren Wundstellen war das in der Regel zu beobachten. Bei den großen Brandwunden war die Abgrenzung nicht so deutlich; oft blieben mehrere Zellreihen ungefärbt oder die Zellen der Umgebung waren schwächer gefärbt oder zeigten nur Zäpfchenbildung. In der Nähe der Brandwunden war stets die Tendenz zur Zäpfchenbildung zu beobachten.

Bei den kleinen Wunden begannen sich nach längerer Zeit, etwa einer Woche bei günstigen Belichtungsverhältnissen, auch die anfänglich ungefärbten Zonen zu färben, während sie bei den größeren noch nach 14 Tagen unverändert blieben. Nach 3 Wochen waren alle, auch die die großen Wundstellen umgebenden Zellen intensiv gefärbt, wenn auch nicht so stark wie die übrigen.

Um sich zu überzeugen, ob die Dauer der Ausheilung einen Einfluß auf die Färbung der an die Wundstelle angrenzenden Zellen habe, wurden *Elodea*-Sprosse sofort nach der Verwundung in die Mangansalzlösung gebracht; sie zeigten dieselbe Erscheinung wie solche, die 4 bis 9 Tage im Leitungswasser der Ausheilung überlassen wurden, woraus hervorgeht,

daß die Dauer derselben keinerlei Bedeutung für die Manganspeicherung jener Zellen hat.

V. Einige Versuche betreffend die Frage der Manganspeicherung als Folge der Kohlensäureassimilation.

a) Wie schon erwähnt, erfolgt die Manganeinlagerung in den Membranen der Wasserpflanzen nur im Lichte, und zwar wie Molisch (III, p. 1434) durch Versuche festgestellt hat, in der roten Hälfte des Spektrums rascher und intensiver als in der blauen. Dieser Umstand legt den Gedanken nahe, daß die Einlagerung mit der Kohlensäureassimilation im Zusammenhange steht. Versuche mit Kohlensäureabschluß führten nicht zur Lösung dieser Frage, da die Pflanze die bei der Atmung abgegebene Kohlensäure zur Assimilation verwenden kann (Molisch, III, p. 1434).

Folgender Versuch mit vollständigem Luftabschluß führte ebenfalls nicht zum erwünschten Resultat: 3 *Elodea*-Sprosse wurden auf eine Stunde in abgekochtes Wasser gebracht, damit beim Einlegen in die Versuchslösung kein lufthaltiges Wasser an den Blättern haften bliebe. Sodann wurde je ein Sproß in eine Eprouvette gebracht und dem direkten Sonnenlichte ausgesetzt. Von den 8 Eprouvetten wurden vier mit einer 0·1-prozentigen $MnCl_2$-Lösung in abgekochtem und filtriertem Leitungswasser gefüllt und mit Öl überschichtet, die anderen vier mit einer ebensolchen Lösung in nicht abgekochtem Leitungswasser. Nach Ablauf von 1, 2, 3 und 8 Stunden wurden die Blättchen je eines Sprosses aus der Lösung mit Luftabschluß, beziehungsweise aus der Kontrolllösung unter das Mikroskop gebracht. Es zeigte sich, daß sich die Blättchen trotz des Luftabschlusses färben. Aber auch diese Tatsache würde der oben erwähnten Annahme nicht widersprechen, da die Pflanze den Sauerstoff aus den Interzellularräumen veratmen kann, und die auf diesem Wege, beziehungsweise durch die intramolekulare Atmung gebildete Kohlensäure wieder die Assimilation ermöglicht. Auffallend war bei dem Versuche, daß die Sprosse in den Lösungen mit Luftabschluß sogar eine stärkere Manganeinlagerung aufwiesen als die Kontrollpflanzen.

Dieser Unterschied konnte vielleicht von der Verschiedenheit der Individuen herrühren. Deshalb wurde der Versuch wiederholt. Zehn möglichst ähnliche, gesunde Sprosse wurden auf 2 Stunden in abgekochtes Leitungswasser gelegt, dann je fünf in eine abgekochte $MnCl_2$-Lösung mit Luftabschluß, beziehungsweise in eine nicht abgekochte, und dem direkten Sonnenlichte ausgesetzt. Nach 3 Stunden wurden die Blättchen der einzelnen Individuen bezüglich ihrer Manganoxydspeicherung verglichen. Der Vergleich ergab, daß tatsächlich die Braunfärbung bei den 5 Sprossen aus den Lösungen mit Luftabschluß durchschnittlich deutlich intensiver war als bei den übrigen, eine Tatsache, die ich mir allerdings nicht ohne weiteres erklären kann.

b) Bekanntlich sind viele Wasserpflanzen imstande, dem Calcium- und Alkalicarbonat die Kohlensäure zu entnehmen, wobei die Carbonate ausgeschieden werden, und zwar soll die Kohlensäureentnahme aus den Bicarbonaten sogar eine sehr wichtige Rolle bei der Kohlensäureassimilation der Wasserpflanzen spielen (Angelstein, I, p. 16 des Sonderabdruckes). Das ausgeschiedene Alkali könnte nun die Ursache für die Fällung und Einlagerung des Mangans in Mangansalzlösungen sein (vgl. Molisch, III, p. 1436).

Es wurde eine ganze Reihe von Wasserpflanzen auf ihre Fähigkeit hin, das Wasser alkalisch zu machen, geprüft. Dazu wurden natürlich nur solche Versuchsgefäße verwendet, in denen das Wasser keine aus dem Glase herrührende Alkaleszenz zeigte, wobei als Indikator Phenolphtalein diente (vgl. Molisch, V, p. 969). Nach Molisch bewirken folgende Pflanzen Alkaleszenz des Wassers: *Potamogeton lucens*, *P. natans*, *P. perfoliatus*, *P. crispus*, *Ceratophyllum demersum*, *Stratiotes aloides*, *Myriophyllum verticillatum*, *Vallisneria spiralis*, *Elodea canadensis*, *Ranunculus aquatilis*, *Riccia fluitans* und *Chara* sp. Unter den geprüften Pflanzen wurde das Wasser außerdem bei folgenden alkalisch: *Potamogeton pectinatus*, *P. densus*, *P. acutifolius*, *Myriophyllum spicatum*, *Najas major*, *Hydrilla verticillata*, *Ranunculus divaricatus*, *Sagittaria sagittifolia*, *Alisma plantago* (Bandblätter), *Alisma gramineum*, *Lemna trisulca*, *L. minor*, *Fontinalis antipyretica*.

Außer bei den von Molisch angeführten Pflanzen (*Hydrocharis morsus ranae, Utricularia* sp., *Polygonum amphibium, Veronica beccabunga, Lemna polyrrhiza*) ließ sich keine Alkaleszenz des Wassers nachweisen bei: *Callitriche* sp., *Alisma plantago* (Luftblätter), *Veronica anagallis, Galium palustre, Myosotis scorpioides, Lysimachia nummularia, Sparganium simplex, Butomus umbellatus.*

Im allgemeinen sind es dieselben Pflanzen, welche das Wasser alkalisch machen und in Mangansalzlösungen Manganoxyd speichern. Ausnahmen bilden *Butomus* und *Hydrocharis*, die zwar Manganoxyd ausscheiden, aber keine Alkaleszenz des Wassers bewirken. Das könnte man so erklären, daß die erwähnten Pflanzen sehr langsam die Kohlensäure durch die Epidermis aufnehmen, wodurch nur wenig Alkalicarbonat ausgeschieden wird und dieses in kurzer Zeit wieder in Bicarbonat übergeführt werden kann. Übereinstimmend damit färbt sich *Hydrocharis* erst nach längerem Verweilen in der Mangansalzlösung, manchmal nach einigen Wochen, oft auch gar nicht. Pflanzen, die sich — wie *Elodea* oder *Potamogeton* — in kurzer Zeit auf der ganzen Oberfläche färben, bewirken alle starke Alkaleszenz des Wassers.

c) Folgender Versuch sollte zur Klärung der Frage beitragen, ob die Manganspeicherung nur von der Kohlensäureaufnahme oder speziell von der Zerlegung der Alkalibicarbonate abhängig ist: *Elodea*-Sprosse wurden in destilliertes Wasser gebracht, durch welches Kohlensäure durchgeleitet wurde, um das an den Blättchen haftende $CaCO_3$ zu lösen; dann wurden die Pflanzen mit destilliertem Wasser gewaschen und teils in eine 0·05-prozentige $MnSO_4$-Lösung in destilliertem Wasser, in welche kurze Zeit Kohlensäure eingeleitet wurde, gebracht, teils in eine solche in Leitungswasser, und die Gefäße in direktes Sonnenlicht gestellt. Im Leitungswasser zeigte sich die Bräunung sehr bald, während die Pflanzen im destillierten Wasser, obwohl lebend, auch nach einer Woche keine Färbung aufwiesen. Der Grund konnte darin liegen, daß sich die Pflanze in einer ihr schädlichen Lösung befand und dadurch geschwächt wurde, und nicht in der Abwesenheit des Alkalibicarbonats.

Deshalb wurde eine Nährlösung (0·025% KNO_3 + 0·025% KCl in destilliertem Wasser), der 0·05% $MnSO_4$ und $NaHCO_3$ zugesetzt wurde, verwendet.

$NaHCO_3$-Zusatz	$MnSO_4$ + Nährlösung					$MnSO_4$ + Leitungswasser
	—	Spur	0·01%	0·03%	0·3%	
Beginn der Versuche 5. Juli						
8. Juli	—	1	5	2	—	2
12. Juli	—	5	5	4	3	4

Skala: 1 kaum merkliche, 5 sehr intensive Braunfärbung

In der Nährlösung ohne Bicarbonatzusatz färbte sich die Pflanze so gut wie gar nicht (nur 3 Blättchen zeigten eine sehr geringe Ausscheidung). In den Lösungen, den $NaHCO_3$ zugesetzt wurde, war die Ausscheidung viel reichlicher als im Leitungswasser. Besonders intensiv war die Färbung in der Lösung mit 0·01% Bicarbonatzusatz. Die betreffende Pflanze assimilierte so kräftig, daß am Morgen des 6. Juli (die Pflanzen waren am Abend des 5. Juli in die Lösungen gebracht worden), noch bevor sie vom direkten Sonnenlichte getroffen wurde, mit großer Geschwindigkeit Gasbläschen von der Verwundungsstelle des Stengels aufstiegen, während bei den übrigen Sproßstücken hievon nichts zu bemerken war. Daß die Sprosse mit reichlicherem Zusatz von $NaHCO_3$ weniger intensiv assimilierten, ist darauf zurückzuführen, daß infolge der größeren Menge des Bicarbonats ein Teil zur Fällung des Mangans in der Lösung verwendet wurde, andrerseits ist bei den betreffenden Lösungen wohl auch das Optimum der Konzentration überschritten worden (Angelstein, I, p. 15 des Sonderabdr.).

Der Sproß, der auffallend intensiver assimilierte als die übrigen, zeigte auch in sehr kurzer Zeit eine unverhälnismäßig reichlichere Manganoxydabscheidung, woraus man wohl mit

einiger Wahrscheinlichkeit schließen dürfte, daß diese parallel mit der Assimilation einhergeht.

VI. Zusammenfassung.

Die von Molisch entdeckte, im Lichte eintretende Manganoxydspeicherung in der Epidermis submerser Wasserpflanzen wurde weiter verfolgt und führte zu folgenden Ergebnissen:

1. In Übereinstimmung mit Molisch erfolgt die Manganeinlagerung nur an lebenden Objekten.

2. Die Fähigkeit, Mangan in der Zellwand zu speichern, findet sich fast allgemein bei den typischen submersen Wasserpflanzen; seltener und in geringerem Maße tritt die Manganspeicherung bei amphibischen und bei Schwimmpflanzen auf und fehlt fast vollständig bei Landpflanzen.

3. Bei zu starker, der Pflanze schädlicher Mangansalzkonzentration oder wenn die Individuen stark geschwächt sind, bleibt die Manganoxydabscheidung bei sonst manganspeichernden Pflanzen oft ganz aus.

4. Der Ort der Manganspeicherung ist für die einzelnen Pflanzen charakteristisch. Bei Pflanzen mit Hydropoten sind es diese, welche Manganoxyd in den Membranen einlagern.

5. Bei manganspeichernden Pflanzen mit Spaltöffnungen zeigen die Schließzellen, in der Regel auch die Nebenzellen, keine Manganoxydeinlagerung.

6. Die an eine verletzte Stelle angrenzenden Zellen unterscheiden sich von den übrigen dadurch, daß sie sich anfangs überhaupt nicht, später aber schwächer als die Umgebung infolge der Manganoxydspeicherung färben.

7. Die Form des gefärbten Teiles der Zellwand ist in der Regel für die einzelnen Pflanzen nicht charakteristisch; eine Ausnahme bildet die regelmäßige Querstreifung der Rindenzellen bei *Chara*.

8. Die Manganspeicherung erfolgt meist nur in der äußeren Epidermismembran; nur ausnahmsweise kommt sie auch in den Seitenwänden der Epidermiszellen oder in den Zellwänden der subepidermalen Zellschichte vor.

9. Wasserpflanzen, die in größerer Menge Manganoxyd speichern, bewirken durchwegs Alkaleszenz des Wassers.

10. In einer Lösung des Mangansalzes in destilliertem Wasser, auch bei Zusatz von neutralen Salzen, zeigen die Pflanzen keine Manganspeicherung, wohl aber in der erwähnten Lösung mit Alkalibicarbonatzusatz.

11. Die unter 1, 2, 4, 9 und 10 angeführten Tatsachen stimmen — neben der von Molisch betonten Abhängigkeit der Manganspeicherung vom Lichte — mit der Annahme überein, daß diese eine Folge der Kohlensäureassimilation darstellen dürfte.

Literatur.

Angelstein U., I. Untersuchungen über die Kohlensäureassimilation submerser Wasserpflanzen. Cohn's Beit. zur Biologie der Pflanzen, Bd. 10, 1911.

Hamorak N., I. Beiträge zur Mikrochemie des Spaltöffnungsapparats. Diese Sitzungsber., Abt. I, 124. Bd., 1915.

Hassak C., I. Über das Verhältnis von Pflanzen zu Bicarbonaten und über Kalkinkrustation. Unters. aus dem bot. Inst. zu Tübingen, II. Bd.

Houtermans E., I. Über angebliche Beziehungen zwischen der Salpetersäureassimilation und der Manganabscheidung in der Pflanze. Diese Sitzungsber., Abt. I, 121. Bd., 1912.

Kindermann V., I. Über die auffallende Widerstandskraft der Schließzellen gegen schädliche Einflüsse. Diese Sitzungsber., Abt. I, 111. Bd., 1902.

Kluyver A. J., I. Beobachtungen über die Einwirkung von ultravioletten Strahlen auf die höhere Pflanze. Diese Sitzungsber., Abt. I, 120. Bd., 1911.

Leitgeb H., I. Beiträge zur Physiologie des Spaltöffnungsapparats. Mitt. des bot. Inst. zu Graz. Jena 1888, Bd. I.

Mayr Fr., I. Hydropoten an Wasser- und Sumpfpflanzen. Beihefte zum Bot. Zentralblatt, Bd. XXXII, 1. Abt., Dresden 1915.

Molisch H., I. Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen. Jena 1892.

— II. Untersuchungen über das Erfrieren der Pflanzen. Jena 1897.

— III. Über lokale Membranfärbung durch Manganverbindungen bei einigen Wasserpflanzen. Diese Sitzungsber., 118. Bd., 1909.

— IV. Die Eisenbakterien. Jena 1910.

— V. Über die Fällung des Eisens durch das Licht und grüne Wasserpflanzen. Diese Sitzungsber.. Abt. I, Bd. 119, 1910.

— VI. Beiträge zur Mikrochemie der Pflanze. Berichte der Deutschen Bot. Ges., XXXVI. Jahrg., Heft 8, 1918.

Pringsheim N., I. Über die Entstehung der Kalkinkrustationen an Süßwasserpflanzen. Pringsheim's Jahrb., Bd. 19, 1888.

Erklärung der Abbildungen.

Die Figuren 1, 2, 3, 4, 6, 7 und 9 etwa 290-fach, Fig. 5 und 8 etwa 90-fach vergrößert.

Fig. 1 *a*. Flächenschnitt eines Blattes von *Stratiotes aloides*, nach längerem Verweilen in einer 0·05-prozentigen $MnSO_4$-Lösung; neben der charakteristischen Manganspeicherung in der Membran tritt Zapfenbildung (*z*) auf.

Fig. 1 *b*. Querschnitt desselben; Manganeinlagerung in der oberen Epidermiswand, eine Zelle zeigt die erwähnte Zapfenbildung (*z*).

Fig. 2. Unterseite eines Schwimmblattes von *Potamogeton natans*, nach dreitägigem Verweilen in einer 0·01-prozentigen $MnCl_2$-Lösung. Die Schließzellen und die ihnen parallelen Nebenzellen zeigen keine Manganeinlagerung, wodurch sie sich scharf von der Umgebung abheben.

Fig. 3. Querschnitt durch einen Sproß von *Lemna trisulca*, die sich 5 Tage in einer 0·025-prozentigen $MnCl_2$-Lösung befand. Die Manganspeicherung tritt nicht in der äußeren Epidermiswand, sondern in den Seitenwänden sowie in den inneren Membranen auf.

Fig. 4. Querschnitt durch ein Thallusstück von *Chara* sp. aus einer 0·01-prozentigen $MnCl_2$-Lösung; die Manganeinlagerung ist nicht auf die äußere Oberhautwand beschränkt; sie nimmt wohl ihren Ausgang in dieser und schreitet dann gegen das Innere vor.

Fig. 5. Flächenansicht eines solchen; die Rindenzellen zeigen die charakteristische Querstreifung.

Fig. 6. Flächenansicht eines Blattes von *Elodea canadensis*, das durch eine Nadelspitze verwundet und auf 3 Tage in eine 0·05-prozentige $MnCl_2$-Lösung gebracht wurde; die an die verletzte Stelle angrenzenden Zellen zeigen keine Manganoxydabscheidung.

Fig. 7. Eine Hydropote von der Unterseite eines Schwimmblattes von *Sagittaria sagittifolia*, nach 13-tägigem Verweilen in einer 0·025-prozentigen $MnCl_2$-Lösung; die Zellen der Hydropote lagern Manganoxyd ein, während sich die Umgebung nicht färbt.

Fig. 8. Lange Hydropote (vgl. Mayr, I, p. 284) von der Unterseite eines Bandblattes von *Sagittaria sagittifolia*. Die Hydropoten = die Zellen über den Nerven, wiesen in einer 0·025-prozentigen $MnCl_2$-Lösung nach 3 Tagen sehr reichliche Manganoxydabscheidung auf, die übrigen Zellen dagegen keine.

Fig. 9. Querschnitt durch den Stengel von *Myriophyllum spicatum*, aus einer 0·025-prozentigen $MnCl_2$-Lösung; nur die äußere Epidermiswand der Hydropote zeigt Manganoxydeinlagerung (vgl. Mayr, I, p. 329).